

III. METODOLOGI

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya pada bulan Maret hingga September 2017.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi stoples perbanyakan (p=11 cm, l=8 cm, t=11 cm), tabung perlakuan (d=6,5 cm, t=9 cm), cawan petri (d=9 cm, t=1,5 cm), mikroskop, nampan, kain kasa, karet gelang, kertas label, tabung kecil, *freezer*, *hand counter*, kuas, kamera digital dan timbangan digital.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang tanah varietas Kelinci, Kancil, Hypoma 1, Talam 1, Tuban, Jerapah, imago *O. mercator*, *rolled oat* dan ragi (*yeast*).

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu persiapan dan pelaksanaan penelitian. Tahap pertama yaitu persiapan penelitian meliputi penyediaan pakan, sterilisasi pakan, perbanyakan serangga, analisis proksimat pakan, uji kandungan serat dan uji kekerasan pakan. Tahap kedua yaitu pelaksanaan penelitian terdiri dari pengamatan terhadap pertumbuhan dan perkembangan serangga *O. mercator* pada kacang tanah varietas Kelinci, Kancil, Hypoma 1, Talam 1, Tuban dan Jerapah.

3.3.1 Persiapan Penelitian

Penyediaan Pakan serangga

Penyediaan pakan terdiri dari dua jenis yaitu penyediaan pakan untuk perbanyakan serangga dan penyediaan pakan untuk perlakuan. Pakan serangga yang digunakan untuk perbanyakan serangga (*rearing*) yaitu *rolled oat* dan ragi (*yeast*) (Hagstrum dan Subramanyam, 2006). Pakan serangga yang digunakan untuk perlakuan berupa enam varietas kacang tanah yang didapat dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi) Malang yaitu varietas Kelinci, Kancil, Hypoma 1, Talam 1, Tuban dan Jerapah. Varietas tersebut dipilih karena merupakan varietas yang mudah didapatkan dan banyak digunakan oleh petani dalam proses budidaya kacang tanah. Pakan kacang tanah yang telah

diperoleh selanjutnya dilakukan pengupasan kulit ari dan pemisahan dari benda asing seperti batu, kulit kacang tanah dan serangga, kemudian dilakukan pemisahan biji utuh untuk disterilisasi.

Sterilisasi Pakan serangga

Sterilisasi bertujuan agar pakan yang digunakan dalam penelitian tidak terkontaminasi oleh organisme lain. Pakan dimasukkan ke dalam tabung kaca ($d=15$ cm, $t=17$ cm) sebelum disterilisasi. Sterilisasi dilakukan menggunakan *freezer* dengan suhu -15 °C selama tujuh hari kemudian dipindahkan ke lemari pendingin dengan suhu 5 °C selama tujuh hari dan dipindahkan ke ruangan dengan suhu 27 ± 2 °C selama dua minggu untuk normalisasi suhu sebelum digunakan (Heinrichs *et al.*, 1985).

Perbanyakan Serangga

Perbanyakan serangga dilakukan di Laboratorium Hama Tumbuhan dimulai dengan pemeliharaan yang dilakukan dalam tabung perbanyakan serangga. Serangga untuk perbanyakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Hama Tumbuhan. Serangga yang diperoleh diidentifikasi terlebih dahulu di bawah mikroskop. Identifikasi dilakukan untuk menentukan spesies sebelum perbanyakan serangga. Serangga yang telah diidentifikasi diperbanyak pada bahan pakan *rolled oat* dan ragi dengan perbandingan 95% : 5% yaitu dengan menginfestasi 100 ekor serangga ke dalam 80 g pakan (Hagstrum dan Subramanyam, 2006; Beckel *et al.*, 2007). Bahan pakan dibiarkan selama tujuh hari untuk memberikan kesempatan serangga untuk meletakkan telur. Setelah tujuh hari seluruh imago dipindahkan dari dalam toples ke pakan baru. Telur yang telah dihasilkan dibiarkan hingga berkembang menjadi imago baru (F_1). Imago baru yang digunakan dalam penelitian berumur antara satu hingga dua minggu (Heinrichs *et al.*, 1985).

Analisis Pakan

Analisis Proksimat Pakan. Analisis proksimat pakan dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Analisis proksimat bertujuan untuk mengetahui kandungan karbohidrat, lemak, protein, kadar air dan abu pada kacang tanah varietas Kelinci, Kancil, Hypoma 1, Talam 1, Tuban dan Jerapah.

Analisis Kandungan Serat Kasar. Analisis kandungan serat kasar dilakukan di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Analisa kandungan serat kasar bertujuan untuk mengetahui kandungan serat kasar pada kacang tanah varietas Kelinci, Kancil, Hypoma 1, Talam 1, Tuban dan Jerapah.

Uji Kekerasan Biji. Uji kekerasan biji dilakukan di Laboratorium Teknik Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang menggunakan alat *texture analyzer*. Uji ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kekerasan kacang tanah yang digunakan dalam penelitian dengan mengukur jumlah gaya yang dibutuhkan untuk menghancurkan masing-masing varietas kacang tanah.

3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua unit penelitian yaitu 1) penelitian pertumbuhan populasi serangga *O. mercator* pada enam varietas kacang tanah dengan populasi awal infestasi berbeda dan 2) perkembangan *O. mercator* pada enam varietas kacang tanah.

Pertumbuhan *O. mercator* pada Enam Varietas Kacang Tanah

Penelitian pertumbuhan populasi bertujuan untuk mengetahui pertumbuhan serangga *O. mercator* pada enam varietas kacang tanah dengan populasi imago awal infestasi yang berbeda. Penelitian pertumbuhan populasi serangga *O. mercator* terdiri dari 30 perlakuan (Tabel 3). Penelitian ini menggunakan metode *no choice test*.

Tabel 3. Perlakuan jenis pakan dan jumlah imago pada penelitian pertumbuhan *O. mercator*

No.	Varietas pakan kacang tanah	Padat populasi (pasang)				
		1	5	10	20	40
1.	Varietas Kelinci	*Kl ₁	Kl ₅	Kl ₁₀	Kl ₂₀	Kl ₄₀
2.	Varietas Kancil	Kn ₁	Kn ₅	Kn ₁₀	Kn ₂₀	Kn ₄₀
3.	Varietas Hypoma 1	Hp ₁	Hp ₅	Hp ₁₀	Hp ₂₀	Hp ₄₀
4.	Varietas Talam 1	Tl ₁	Tl ₅	Tl ₁₀	Tl ₂₀	Tl ₄₀
5.	Varietas Tuban	Tb ₁	Tb ₅	Tb ₁₀	Tb ₂₀	Tb ₄₀
6.	Varietas Jerapah	Jp ₁	Jp ₅	Jp ₁₀	Jp ₂₀	Jp ₄₀

Keterangan: *Kode dari varietas kacang tanah dan kepadatan populasi *O. mercator*

Penelitian pertumbuhan populasi *O. mercator* diatur dalam Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) yang diulang sebanyak empat kali. Penelitian diawali dengan menimbang masing-masing pakan yang telah disterilisasi sebanyak 30 g, kemudian pakan dimasukkan ke dalam tabung perlakuan (d=6,5 cm, t=9 cm) (Heinrichs *et al.*, 1985). Masing-masing perlakuan varietas kacang tanah diinfestasi imago *O. mercator* sebanyak 1, 5, 10, 20 dan 40 pasang. Tabung perlakuan ditutup dengan kain kasa untuk menghindari imago *O. mercator* keluar dari tabung serta menghindari kontaminasi dari serangga lain. Infestasi imago *O. mercator* dilakukan selama sepuluh hari untuk memberi kesempatan imago meletakkan telur.

Variabel yang Diamati pada Penelitian Pertumbuhan *O. mercator*

Jumlah Telur, Larva, Pupa dan Imago Baru. Pertumbuhan serangga *O. mercator* pada enam varietas kacang tanah diamati dengan menghitung jumlah telur, jumlah larva, jumlah pupa dan jumlah imago baru (F_1). Jumlah telur dihitung pada hari kesepuluh setelah infestasi. Jumlah telur dihitung di bawah mikroskop. Setelah proses penghitungan selesai, pakan yang telah terinfestasi oleh telur dimasukkan kembali ke dalam tabung perlakuan. Jumlah larva, pupa dan imago baru (F_1) dihitung dengan cara yang sama dengan penghitungan jumlah telur. Jumlah larva dihitung pada hari ke-20 setelah infestasi, jumlah pupa dihitung pada hari ke-30 setelah infestasi. Jumlah imago baru dihitung setiap hari sejak kemunculan imago pertama kali hingga tidak ada imago baru yang muncul.

Berat imago baru (F_1) *O. mercator*. Berat imago baru (F_1) *O. mercator* diamati dengan mengambil sampel sebanyak 10 imago pada masing-masing perlakuan. Sampel imago selanjutnya ditimbang menggunakan timbangan analitik untuk selanjutnya dihitung berat rata-rata setiap perlakuan.

Penurunan berat pakan. Pengamatan penurunan berat pakan dilakukan setelah semua imago baru muncul. Penurunan berat pakan dihitung dengan cara mengurangi berat pakan awal dengan berat pakan akhir.

Penghitungan indeks kepekaan (IK). Penghitungan indeks kepekaan bertujuan untuk menentukan tingkat kepekaan atau ketahanan setiap varietas kacang tanah yang digunakan terhadap infestasi serangga *O. mercator* (Tabel 4). Indek kepekaan dihitung menggunakan rumus Dobie (1974) dalam Dobie dan Kilminster (1977).

Rumus indeks kepekaan:

$$\text{Indeks Kepekaan} = \frac{\log_e F}{D} \times 100$$

Keterangan:

F adalah jumlah imago baru

D adalah median waktu perkembangan yang dihitung dari pertengahan periode oviposisi sampai dengan munculnya 50% imago baru

Tabel 4. Kriteria indeks kepekaan pakan (Dobie, 1974 *dalam* Astuti *et al.*, 2013)

Nilai indeks kepekaan	Kategori indeks kepekaan
0 - <4	Tahan
4 - <8	Agak Tahan
8 - <11	Peka
≥ 11	Sangat Peka

Perkembangan *O. mercator* pada Enam Varietas Kacang Tanah

Penelitian perkembangan *O. mercator* bertujuan untuk mengetahui lama stadium telur, larva, pupa, praoviposisi serta siklus hidup serangga *O. mercator* pada enam varietas kacang tanah. Penelitian ini terdiri dari enam perlakuan jenis pakan (Tabel 5). Penelitian perkembangan serangga *O. mercator* diatur dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang diulang sebanyak empat kali. Penelitian perkembangan serangga *O. mercator* diawali dengan menimbang pakan yang telah disterilisasi sebanyak 30 g. Pakan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung perlakuan. Masing-masing perlakuan varietas kacang tanah diinfestasikan imago *O. mercator* tanpa membedakan populasi awal imago *O. mercator* (50 individu). Tabung perlakuan ditutup kain kasa dan dibiarkan selama satu hari untuk memberi kesempatan imago meletakkan telur (Lecato dan Flaherty, 1974). Telur yang diletakkan pada hari yang sama kemudian dipindahkan kedalam tabung kecil (*pial film*) secara terpisah untuk diamati setiap hari. Variabel yang diamati yaitu lama stadium telur, larva, pupa, praoviposisi dan siklus hidup *O. mercator*.

Tabel 5. Perlakuan jenis pakan pada penelitian perkembangan *O. mercator*

No.	Perlakuan pakan	Kode
1.	Kacang tanah varietas Kelinci	Kl
2.	Kacang tanah varietas Kancil	Kn
3.	Kacang tanah varietas Hypoma 1	Hp
4.	Kacang tanah varietas Talam 1	Tl
5.	Kacang tanah varietas Tuban	Tb
6.	Kacang tanah varietas Jerapah	Jp

Fase telur diamati dengan mengambil sebanyak sepuluh butir telur yang diletakkan pada hari yang sama pada masing-masing pakan. Telur tersebut dipindahkan ke *pial film* menggunakan kuas. Telur diamati setiap hari dan dilakukan pencatatan waktu yang dibutuhkan hingga telur menetas menjadi larva. Stadium larva diamati sejak larva pertama kali terbentuk. Larva yang muncul pada hari yang sama dipindahkan ke *pial film* dan diberi pakan sesuai dengan perlakuan. Larva tersebut ditempatkan satu larva per *pial film*. Larva diamati setiap hari dan dilakukan pencatatan waktu yang dibutuhkan hingga larva menjadi pupa. Fase pupa diamati sejak pupa pertama kali terbentuk. Pupa diamati setiap hari dan dilakukan pencatatan waktu yang dibutuhkan hingga pupa menjadi imago baru. Praoviposisi diamati sejak imago baru terbentuk, dan imago baru yang terbentuk langsung dipasangkan antara jantan dan betina kemudian diamati setiap hari dan dilakukan pencatatan waktu yang dibutuhkan hingga imago meletakkan telur untuk pertama kali. Siklus hidup diamati dengan menghitung waktu yang dibutuhkan oleh *O. mercator* pada masing-masing perlakuan sejak telur diletakkan hingga imago baru meletakkan telur yang pertama.

3.4 Analisis Data

Semua data yang diperoleh dari pengamatan penelitian pertumbuhan dan perkembangan serangga *O. mercator* dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kesalahan 5%. Apabila hasil analisis menunjukkan pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kesalahan 5% menggunakan perangkat lunak Microsoft Office Excel 2007 dengan program tambahan DSAASTAT versi 1.101. Uji normalitas dan korelasi dilakukan dengan bantuan perangkat lunak IBM SPSS *Statistics* versi 20. Untuk mengetahui pengaruh kandungan kimia kacang tanah

dengan pertumbuhan *O. mercator* dilakukan analisis menggunakan *Canonical Correspondence Analysis* (CCA) yang dilanjutkan dengan metode *Ordistep*. Seluruh analisis dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak R *Statistic*.